

氏 名	ABU GAFAR MD. LOKMAN HOSSION
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位記授与番号	甲第 4329 号
学位授与の日付	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 5 条第 1 項該当)
学位論文の題目	Discovery and Synthesis of Quercetin Diacylglycoside Analogues Showing Dual Inhibition of DNA Gyrase and Topoisomerase IV as Novel Antibacterial Agents (Gyrase 並びに Topoisomerase IV の双方の阻害活性を有する新規抗菌物質としての Quercetin Diacylglycoside 誘導体の発見および合成)
論文審査委員	教授 佐々木 健二 教授 竹内 靖雄 准教授 黒田 照夫

学位論文内容の要旨

The outlines of dissertation are as follows:

Firstly, a series of novel quercetin diacylglucosides were designed and first synthesized by Steglich esterification on the basis of MRSA strains inhibiting natural compound kaemferol diacylrhamnoside. The *in vitro* inhibition of different multi-drug resistant bacterial strains (MRSA, MSSA, VRE, VISA, K-12, PA01) and *Escherichia coli* DNA gyrase B for these compounds was investigated.

Secondly, in an attempt to clarify the mode of action (MOA) and to explore the extensive structure activity relationships (SARs) of these quercetin diacylglycoside analogues. A structure-guided molecular design approach was used to optimize these analogues that inhibit bacterial DNA gyrase and topoisomerase IV and show potent antibacterial activity against a wide spectrum of relevant pathogens responsible for hospital- and community-acquired infections. Further such novel 3,7-diacylquercetin, quercetin 6''-acylgalactoside and quercetin 2'',6''-diacylgalactoside as analogues of quercetin diacylglucosides as well as lead compound kaemferol diacylrhamnoside were prepared to assess their target specificities and preferences in bacteria. The significant enzymatic inhibition of both *E. coli* DNA gyrase and *S. aureus* topoIV suggest that these compounds are dual inhibitors. Most of the investigated compounds exhibited pronounced inhibition with MIC values ranging from 0.13 to 128 µg/mL towards the growth of multidrug-resistant Gram-positive MRSA, MSSA, VRE, VISA and *Streptococcus pneumoniae* bacterial strains. Structure-activity relationship studies urged that the acyl moiety was absolutely essential for activity against Gram-positive organisms. The most active compound was minimally 512-fold more potent than vancomycin and ca. 32-fold more potent than kaemferol diacylrhamnoside. It also has realistic *in situ* intestinal absorption in rats, and showed very low acute toxicity in mice.

Thirdly, the two factors that contributed to antibacterial potency of quercetin diacylglycoside analogues are the kinetics of drug uptake and the ability to inhibit DNA gyrase or topoIV. For an antibacterial agent to be effective, it must penetrate the bacterial cell first to reach its target enzymes. The author would like to propose that the primary target for these compounds valued the penetration of bacterial cell though there is still more desired the investigation to observe the permeability of cell membrane.

In conclusion, these novel quercetin diacylglycoside analogues represent one of most exciting recent chemical advances in the antibacterial. As a novel chemical class that address the multidrug resistance problem by their novel mode of action, these analogues can be regarded as leading antibacterial agents for further investigation to provide new antibacterial agents for use against nosocomial multidrug-resistant Gram-positive infection.

論文審査結果の要旨

本論文は新規な構造を有する **quercetin diacylglycoside** 類がグラム陽性細菌に対して有効な抗菌活性を有し、それが細菌の **DNA gyrase** 並びに **topoisomerase IV** の双方の酵素を阻害することによって引き起こされるものであることを明らかにしたものである。著者が属する研究室では、共同研究者らが既に月桂樹の抽出物に抗MRSA活性物質が含まれ、その構造が **2-(3',4'-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[2'',4''-di-O-(4-hydroxycinnamoyl)- α -L-rhamnosyl]-4H-chromen-4-one** であることは既に報告している。本申請者は天然由来の物質であるこの活性物質を基に構造展開することを計画し、化学的に不安定な α -L-rhamnose の代わりに化学的により安定な β -D-glucopyranose（またはgalactopyranose）を有し、且つ糖が有する置換基として **cinnamoyl** 基の代わりに二重結合が還元された **phenylpropanoyl** 基を導入した化合物を種々合成すると共に、それらの抗菌活性を測定し、これらの化合物の多くが *in vitro* でMRSA, MSSA, VRE, VISA 等の多剤耐性菌に対して有効であることを明らかにした。更に AutoDock 4.0 を用いたDocking simulation によって、これらの化合物が大腸菌のATP binding site of DNA gyrase Bとうまく結合することを示すと共に、大腸菌の DNA gyrase 及び S. aureus の topoisomerase IV の両者に対する顕著な酵素阻害作用を有することを実験的に証明し、本対象物質がDNA gyrase 及びtopoisomerase IV の両者に対する二重阻害物質（dual inhibitor）であることを示唆した。

以上、著者は市販の抗多剤耐性菌薬を上回る活性の高さを有する新規物質である **quercetin diacylglucosides**（galactosides）を見出すと共に、その活性メカニズムも明らかにしていることから、本研究結果は多剤耐性菌に対する新規抗菌物質の開発研究において有用な情報となり、今後の研究に役立つものである。従って、本論文は薬学領域における博士論文として評価出来るものと考ええる。